

12

**EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

21 Anmeldenummer: **86102901.5**

22 Anmeldetag: **05.03.86**

51 Int. Cl. 4: **A 61 K 31/33**

**A 61 K 31/415, A 61 K 31/44**  
**A 61 K 31/505, A 61 K 31/53**  
**C 07 D 211/72, C 07 D 213/71**  
**C 07 D 235/28, C 07 D 249/08**  
**C 07 D 253/04, C 07 D 277/32**

30 Priorität: **12.03.85 DE 3508666**

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**17.09.86 Patentblatt 86/38**

84 Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE**

71 Anmelder: **HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT**  
**Postfach 80 03 20**  
**D-6230 Frankfurt am Main 80(DE)**

72 Erfinder: **Fleischmann, Klaus, Dr.**  
**In den Weingärten 24**  
**D-6236 Eschborn(DE)**

72 Erfinder: **Dürckheimer, Walter, Dr.**  
**Im Lerchenfeld 45**  
**D-6234 Hattersheim am Main(DE)**

72 Erfinder: **Blumbach, Jürgen, Dr.**  
**Manderscheider Strasse 13b**  
**D-6000 Frankfurt am Main 71(DE)**

72 Erfinder: **Limbert, Michael, Dr.**  
**Am Alten Birnbaum 21**  
**D-6238 Hofheim am Taunus(DE)**

72 Erfinder: **Schorlemmer Hans-Ulrich, Dr.**  
**Am Kirschenwald 2**  
**D-3550 Marburg 21(DE)**

72 Erfinder: **Dickneite, Gerhard, Dr.**  
**Zum Neuen Hieb 31**  
**D-3550 Marburg(DE)**

72 Erfinder: **Sedlacek, Hans-Harald, Dr.**  
**Sonnenhand 3**  
**D-3550 Marburg(DE)**

54 **Heterocyclische Disulfide und ihre Anwendung als Immunmodulatoren.**

57 Heterocyclische Disulfide der allgemeinen Formel Heterocyclus-S-S-Heterocyclus. Verfahren zu ihrer Herstellung und insbesondere ihre Verwendung zur Immunstimulation, Immunrestauration und zytostatischen Behandlung, sowie pharmazeutische Mittel für diese Indikationen, die ein solches Disulfid enthalten

**EP 0 194 571 A1**

## Heterocyclische Disulfide und ihre Anwendung als Immunmodulatoren.

Es ist bekannt, daß die Abwehrmechanismen des lebenden Organismus, die kurz als humorale Immunität und zelluläre Immunität bezeichnet werden, zusammenwirken, um Fremdkörper, die pathogenetische Veränderungen hervorrufen und  
5 schädlich sein können, zu neutralisieren und zu eliminieren, vornehmlich Mikroorganismen oder neoplastische Zellen.

Immunologische Untersuchungen ergaben, daß Zusammenhänge zwischen der durch innere oder durch äußere Faktoren provozierten Abnahme der immunologischen Aktivität und der  
10 Zunahme der Infektions- oder Tumorkrankheiten bestehen. Daneben entstehen andere Krankheiten durch Veränderungen der Funktionen des Immunsystems. Hierzu gehören beispielsweise Autoimmunkrankheiten oder durch Immunkomplexe hervorgerufene  
15 Erkrankungen. Man sucht deshalb seit langem nach Immunstimulantien, d.h. nach Substanzen, die imstande sind, die immunologische Aktivität des Empfängers zu verändern, vorzugsweise zu erhöhen und die aufgrund ihrer hohen  
Wirksamkeit und guten Verträglichkeit einen breiten Einsatz  
20 zur Unterstützung der Abwehrkräfte des Körpers erlauben. Beispiele, die hinsichtlich der Stimulation der Immunität geprüft wurden, sind BCG und C. parvum, ferner die Extrakte des M. tuberculosis und der Brucellen.

25 Diese Substanzen erzeugen jedoch in den Konzentrationen, wie sie zur Anwendung kommen, deutliche Nebenwirkungen, wie z.B. in verschiedenem Ausmaß lokale Granulome. Die Unkenntnis der genauen Natur der Substanzen erschwert eine systematische Untersuchung mit guter Reproduzierbarkeit der  
30 klinischen Ergebnisse. Erwünscht sind somit in diesem Zusammenhang neue Immunstimulantien, die chemisch definierte Substanzen darstellen und geringe Toxizität besitzen,

wie z.B. Bestatin, das zur Zeit ein intensiv untersuchtes niedermolekulares Immunstimulanz ist und allgemein eine wissenschaftliche Referenzsubstanz darstellt.

- 5   Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß die erfindungs-  
gemäßen Verbindungen eine hohe immunstimulierende und im-  
munrestaurative Wirkung besitzen, wie sie sich beispiels-  
weise in der DTH-Reaktion auf Schafserythrozyten, in der  
Aktivierung von mononucleären Phagozyten und in einer aus-  
10   geprägten CSF-Aktivität ausdrückt. Diese immunstimulieren-  
den Effekte können beispielsweise auch in einer Erhöhung  
der Widerstandskraft gegen Infektionen beobachtet werden.  
Darüberhinaus besitzen die erfindungsgemäßen Verbindungen  
überraschenderweise zytostatische Wirksamkeit, so bei-  
15   spielsweise gegen das B16-Melanom an der Maus.

Die vorliegende Erfindung beschreibt somit eine Klasse von immunpharmakologisch und zytostatisch wirksamen Substanzen, die chemisch definiert sind, geringe Toxizität besitzen und  
20   als solche oder in Kombination mit anderen Wirkstoffen wertvolle Arzneimittel darstellen. Die erfindungsgemäßen Verbindungen weisen einen LD<sub>50</sub>-Wert von mehr als 1000 mg/kg bei intravenöser Injektion bei Mäusen auf. Die wirksame immunmodulatorische und zytostatische Menge liegt bei Wir-  
25   beltieren, vorzugsweise warmblütigen Säugern, im Bereich von etwa 0,5 bis etwa 100 mg/kg Körpergewicht pro parenteraler oder oraler Gabe, ohne dabei toxische Nebenwirkungen zu zeigen und ist damit für die Behandlung von Krankheiten des Immunsystems sehr gut geeignet.

30   Die vorliegende Erfindung betrifft also die Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel I

Het-S-S-Het

(I)

zur Immunstimulation, Immunrestauration und zytostatischen  
35   Behandlung und die Verwendung dieser Verbindungen bei der Herstellung eines Arzneimittels für diesen Verwendungszweck.

Die Erfindung betrifft ebenfalls pharmazeutische Mittel zur Immunstimulation, Immunrestauration und zytostatischen Behandlung, die eine Verbindung der allgemeinen Formel I enthalten, sowie die Verwendung eines solchen pharmazeu-  
5 tischen Mittels für die genannte medizinische Indikation.

In den Verbindungen der allgemeinen Formel I steht Het für einen gegebenenfalls substituierten 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus.

10

Der Heterocyclus kann z.B. 1 - 4 Heteroatome enthalten, insbesondere N, gegebenenfalls in Kombination mit S oder O.

Für Het seien beispielsweise folgende grundlegende Ring-  
15 systeme genannt: Thienyl, Furyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Thiazolyl, Isothiazolyl, Oxazolyl, Isoxazolyl, Triazolyl, Thiadiazolyl, Oxadiazolyl, Tetrazolyl, Pyridyl, Pyrazinyl, Pyrimidinyl, Pyridazinyl, Triazinyl sowie benzokondensierte Derivate, wie Benzoxazolyl, Benzothiazolyl und Benz-  
20 imidazolyl, wobei die Ringsysteme auch ganz oder teilweise hydriert sein können, wie z.B. Dihydrotriazinyl.

Bevorzugt sind 5-gliedrige Ringsysteme mit einem Schwefel- oder Sauerstoffatom und 1 bis 2 Stickstoffatomen, wie  
25 Thiazolyl, insbesondere Thiazol-2-yl und Thiazol-5-yl, 1,3,4-Thiadiazolyl, insbesondere 1,3,4-Thiadiazol-5-yl, Oxadiazolyl, wie 1,3,4-Oxadiazol-5-yl. Bevorzugt sind weiterhin 5-gliedrige Ringsysteme mit 1 bis 4, insbesondere 2 bis 4 Stickstoffatomen, wie z.B. Imidazolyl, vorzugsweise  
30 Imidazol-2-yl, Triazolyl, vorzugsweise 1,3,4-Triazol-5-yl und 1,2,4-Triazol-5-yl. Bevorzugt sind auch benzokondensierte Derivate, insbesondere Benzoxazol-2-yl, Benzthiazol-2-yl und Benzimidazol-2-yl.

35 Weiterhin kommen vorzugsweise in Betracht 6-gliedrige Ringsysteme mit 1 bis 3, vorzugsweise 1 bis 2 Stickstoffatomen, wie z.B. Pyridyl, vorzugsweise Pyrid-2-yl, Pyrid-

3-yl und Pyrid-4-yl, Pyrimidyl, vorzugsweise Pyrimid-2-yl und Pyrimid-4-yl, Triazinyl, vorzugsweise 1,2,4-Triazin-3-yl, 2,5- und 4,5-Dihydro-1,2,4-triazin-3-yl.

- 5 Der Rest Het kann substituiert sein, wobei beispielsweise folgende Substituenten in Betracht kommen:

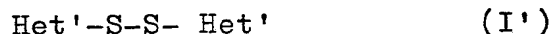
- Geradkettige und verzweigte Alkylgruppen mit 1 - 6, vorzugsweise 1 - 3 C-Atomen, wie z.B. Methyl, Ethyl, n- oder  
10 i-Propyl, n- oder tert.-Butyl, vorzugsweise Methyl, die gegebenenfalls wiederum substituiert sein können durch
- Halogen, wie beispielsweise Chlor, Brom, Hydroxyl,  
Alkoxy mit 1 - 4 C-Atomen, wie z.B. Methoxy, Ethoxy,  
Amino, Alkylamino oder Dialkylamino mit 1 - 4 C-Atomen  
15 pro Alkylrest, wie z.B. Methyl-, Ethyl-, Dimethyl-, Diethylamino,  
Mercapto,  
Alkylthio mit 1 - 4 C-Atomen, wie z.B. Methyl-, Ethylthio,  
20 Alkoxycarbonyl mit 1 - 4 C-Atomen im Alkylteil, wie z.B. Methoxy-, Ethoxycarbonyl  
Aminocarbonyl, N-Alkylaminocarbonyl oder N,N-Dialkylaminocarbonyl mit 1 - 4 C-Atomen pro Alkylteil, wie z.B. N-Methyl-, N-Ethylaminocarbonyl oder N,N-Dimethyl-, N,N-Diethylaminocarbonyl,  
25 Carboxy, Sulfo, Phospho, 1-H-Tetrazol-5-yl,  
Aryl, wie beispielsweise Phenyl,  
Halogen, wie beispielsweise Chlor oder Brom,  
Hydroxy, Oxo, Oxido,  
30 Alkoxy mit 1 - 4 C-Atomen, wie z.B. Methoxy, Ethoxy,  
Amino, Alkylamino oder Dialkylamino mit 1 - 4 C-Atomen pro Alkylteil, wie z.B. Methyl-, Ethyl-, Dimethyl-, Diethylamino oder Acylamino, wobei Acyl für den Rest einer aliphatischen Mono- oder Dicarbonsäure mit 2 - 5  
35 C-Atomen stehen kann, wie z.B. Acetyl, Propionyl, 3-Carboxy-propionyl, 4-Carboxy-butyryl, vorzugsweise Acetyl,

- Alkylthio, Alkenylthio und Alkinylthio mit 1 - 4 C-Atomen  
im Alkyl- und 2 - 4 C-Atomen im Alkenyl und Alkinylteil,  
wie z.B. Methyl-, Ethyl-, Vinyl-, Allyl-, Ethinyl- oder  
Propinylthio, die gegebenenfalls substituiert sein kön-  
5 nen durch Carboxy, Sulfo, Phospho, 1-H-Tetrazol-5-yl  
oder Aminocarbonyl,  
Alkenyl mit 2 - 4 C-Atomen, wie z.B. Vinyl, Allyl, die  
gegebenenfalls substituiert sein können durch Halogen,  
wie beispielsweise Chlor, Brom,  
10 Hydroxy,  
Alkoxy mit 1 - 4 C-Atomen, wie z.B. Methoxy, Ethoxy,  
Alkoxycarbonyl mit 1 - 4 C-Atomen im Alkylteil, wie z.B.  
Methoxy-, Ethoxycarbonyl,  
Aminocarbonyl, N-Alkylaminocarbonyl,  
15 N,N-Dialkylaminocarbonyl mit 1 - 4 C-Atomen pro  
Alkylteil, wie z.B. N-Methyl-, N-Ethylaminocarbonyl  
oder N,N-Dimethyl-, N,N-Diethylaminocarbonyl,  
Carboxy, Sulfo, Phospho, 1-H-Tetrazol-5-yl,  
Carboxy oder  
20 Alkoxycarbonyl mit 1 - 4 C-Atomen im Alkylteil, wie z.B.  
Methoxy-, Ethoxycarbonyl.

Innerhalb der allgemeinen Formel I umfaßt die erfindungs-  
gemäße Verwendung auch neue Verbindungen.

25

Die vorliegende Erfindung betrifft demnach auch neue nie-  
dermolekulare heterocyclische Disulfide der allgemeinen  
Formel I'



30

in der Het' für ein 5-gliedriges Ringsystem mit einem  
Schwefel und 1 bis 2 Stickstoffatomen oder mit 1 - 3  
Stickstoffatomen steht, wie beispielsweise Thiazolyl, ins-  
besondere Thiazol-2-yl und Thiazol-5-yl,  
35 1,3,4-Thiadiazolyl, insbesondere 1,3,4-Thiadiazol-5-yl,  
Imidazolyl, insbesondere Imidazol-2-yl und Triazolyl, ins-  
besondere 1,2,4-Triazol-5-yl. Bevorzugt sind auch benzo-

kondensierte Derivate, insbesondere Benzthiazol-2-yl und Benzimidazol-2-yl.

Het' kann auch stehen für ein 6-gliedriges Ringsystem mit 1 bis 3 Stickstoffatomen, wie beispielsweise Pyridyl, vorzugsweise Pyrid-2-yl, Pyrimidyl, vorzugsweise Pyrimid-2-yl und Triazinyl, vorzugsweise 1,2,4-Triazin-3-yl, wobei die Ringsysteme auch ganz oder teilweise hydriert sein können, wie z.B. Dihydrotriazinyl.

10

Der Rest Het' kann substituiert sein, wobei beispielsweise folgende Substituenten in Betracht kommen:

Geradkettige und verzweigte Alkylgruppen mit 1 - 6, vorzugsweise 1 - 3 C-Atomen, wie z.B. Methyl, Ethyl, n- oder i-Propyl, n- oder tert.-Butyl, vorzugsweise Methyl, die gegebenenfalls wiederum substituiert sein können durch

Halogen, wie beispielsweise Chlor, Brom,  
Hydroxyl,  
Alkoxy mit 1 - 4 C-Atomen, wie z.B. Methoxy, Ethoxy,  
20 Amino, Alkylamino oder Dialkylamino mit 1 - 4 C-Atomen pro Alkylrest, wie z.B. Methyl-, Ethyl-, Dimethyl-, Diethylamino,  
Mercapto,  
Alkylthio mit 1 - 4 C-Atomen, wie z.B. Methyl-,  
25 Ethylthio,  
Alkoxy-carbonyl mit 1 - 4 C-Atomen im Alkylteil, wie z.B. Methoxy-, Ethoxy-carbonyl,  
Aminocarbonyl, N-Alkylaminocarbonyl oder N,N-Dialkylaminocarbonyl mit 1 - 4 C-Atomen pro Alkylteil, wie z.B.  
30 N-Methyl-, N-Ethyl-, N,N-Dimethyl-, N,N-Diethyl-amino-carbonyl,

Carboxy, Sulfo, Phospho, 1-H-Tetrazol-5-yl,  
Aryl, wie beispielsweise Phenyl,  
Halogen, wie beispielsweise Chlor oder Brom,  
35 Hydroxy, Oxo, Oxido,  
Alkoxy mit 1 - 4 C-Atomen, wie z.B. Methoxy, Ethoxy,  
Amino, Alkylamino oder Dialkylamino mit 1 - 4 C-Atomen pro

- Alkylteil, wie z.B. Methyl-, Ethyl-, Dimethyl-Diethylamino oder Acylamino, wobei Acyl für den Rest einer aliphatischen Mono- oder Dicarbonsäure mit 2- 5 C-Atomen stehen kann, z.B. Acetyl, Propionyl,
- 5 3-Carboxy-propionyl, 4-Carboxy-butyryl, vorzugsweise Acetyl,
- Alkylthio, Alkenylthio und Alkinyllthio mit 1 - 4 C-Atomen im Alkyl- und 2 - 4 C-Atomen im Alkenyl- und Alkinyllteil, wie z.B. Methyl-, Ethyl-, Vinyl-, Allyl-, Ethinyl-,
- 10 Propinylthio, die gegebenenfalls substituiert sein können durch Carboxy, Sulfo, Phospho, 1-H-Tetrazol-5-yl oder Aminocarbonyl,
- Alkenyl mit 2 - 4 C-Atomen, wie z.B. Vinyl, Allyl, die gegebenenfalls substituiert sein können durch Halogen, wie
- 15 beispielsweise Chlor, Brom, Hydroxy,
- Alkoxy mit 1 - 4 C-Atomen, wie z.B. Methoxy, Ethoxy, Alkoxy-carbonyl mit 1 - 4 C-Atomen im Alkylteil, wie z.B. Methoxy-, Ethoxy-carbonyl,
- 20 Aminocarbonyl, N-Alkylaminocarbonyl, N,N-Dialkylaminocarbonyl mit 1 - 4 C-Atomen pro Alkylteil, wie z.B. N-Methyl-, N-Ethyl-, N,N-Dimethyl-, N,N-Diethyl-amino-carbonyl
- Carboxy, Sulfo, Phospho, 1-H-Tetrazol-5-yl,
- 25 Carboxy oder Alkoxy-carbonyl mit 1 - 4 C-Atomen im Alkylteil, wie z.B. Methoxy-, Ethoxy-carbonyl.

- Die Heterocyclen Het und Het' können in der vorstehend be-
- 30 schriebenen Weise ein- oder mehrfach, beispielsweise ein- bis dreifach substituiert sein. Bevorzugt sind jedoch Heterocyclen Het und Het', die im heterocyclischen oder im ankondensierten carbocyclischen Ring einen oder 2 Substituenten tragen. Besonders bevorzugt sind solche, bei
- 35 denen von diesen Substituenten mindestens einer eine saure Gruppe trägt, insbesondere eine Carboxygruppe, wie beispielsweise Carboxyalkyl oder Carboxyalkylthio.



Weiterhin bevorzugt sind Heterocyclen Het und Het', die im heterocyclischen Teil oder im ankondensierten carbocyclischen Ring einen oder zwei Substituenten tragen, von denen mindestens einer eine direkt gebundene saure Gruppe  
5 ist, wie beispielsweise Carboxy oder Hydroxy.

Sind die Substituenten am Heterocyclus Het und Het', wie z.B. Alkyl, Alkenyl, Alkyl-, Alkenyl- oder Alkinylothio, in der oben beschriebenen Weise noch weiter substituiert, so  
10 können sie auch mehr als einen Substituenten, beispielsweise 1 - 3 weitere Substituenten tragen. Bevorzugt ist jedoch ihre einfache Substitution.

Erfindungsgemäß besonders bevorzugt sind Verbindungen, in denen Het bzw. Het' für einen Thiazolrest steht, der mindestens durch eine Carboxyl- oder eine Carboxymethylgruppe substituiert ist.  
15

Sofern die Verbindungen der Formeln I und I' saure Funktionen tragen, können sie auch in Form ihrer physiologisch verträglichen Salze vorliegen, beispielsweise als Alkali- und Erdalkalisalze, wie vorzugsweise die Na, K, Ca, Mg-Salze oder beispielsweise Ammoniumsalze oder substituierte Ammoniumsalze, wie beispielsweise  $\text{NH}_4^+$ , Ethanolammonium, Diethanolammonium, Trialkylammonium, wie z.B. Triethylammonium, Tetraalkylammonium, Salze mit basischen Aminosäuren, wie z.B. Lysin, Arginin.  
20  
25

Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I'.  
30

Das erfindungsgemäße Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung der Formel II

35

Het'-SH

(II)

in der Het' die oben angeführte Bedeutung hat, durch Umsetzung mit einem Oxidationsmittel in die erfindungsgemäßen Verbindungen überführt und gegebenenfalls die oben genannten erfindungsgemäßen Substituenten von Het' in andere der oben genannten erfindungsgemäßen Substituenten von Het' überführt.

Als Oxidationsmittel seien beispielsweise genannt Sauerstoff, Wasserstoffperoxid, u.U. unter Zusatz von Eisensalzen, wie beispielsweise Mohr'schem Salz oder unter Zusatz von Basen, wie beispielsweise Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid, Natriumhydrogencarbonat oder Kaliumhydrogencarbonat, organische Persäuren, wie beispielsweise Peressigsäure, Perbenzoesäure oder m-Chlorperbenzoesäure, elementares Jod oder Brom, u.U. unter Zusatz von Basen, wie beispielsweise Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid,  $\text{FeCl}_3$  oder  $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$ .

Als Oxidationsmittel seien als bevorzugt genannt Sauerstoff, Wasserstoffperoxid, organische Persäuren, wie beispielsweise Peressigsäure, Perbenzoesäure und m-Chlorperbenzoesäure und elementares Jod. Die Oxidation wird bevorzugt in Wasser oder einem organischen Lösungsmittel durchgeführt, wie beispielsweise Methanol, Ethanol, iso-Propanol, Essigester und halogenierten Kohlenwasserstoffen, wie beispielsweise Dichlormethan und Chloroform. Es kann auch ein Gemisch dieser Lösungsmittel eingesetzt werden. Beim Arbeiten mit Sauerstoff, Wasserstoffperoxid und Persäuren ist die Verwendung von Lösungsmitteln, die bekanntermaßen explosive Peroxide bilden können, wie beispielsweise Ether, Tetrahydrofuran, Dioxan, Aceton, Methylethylketon, iso-Propanol usw., zu vermeiden.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel III

Het'-X

(III)

in der Het' die oben angeführte Bedeutung hat und X für eine reaktive Abgangsgruppe, wie Halogen, bevorzugt Chlor oder Brom, wie  $-\text{OSO}_2\text{R}$ , wobei R die Bedeutung von bevorzugt Methyl, Trifluormethyl, Phenyl, TolyI oder Naphthyl hat, wie  $-\text{OPO}(\text{OR}'_2)$ , wobei R' die Bedeutung von bevorzugt Phenyl hat, steht, mit  $\text{Me}_2\text{S}_2$  umgesetzt, wobei Me für ein Alkalimetall, vorzugsweise Natrium steht und gegebenenfalls die oben genannten erfindungsgemäßen Substituenten von Het' in andere der oben genannten erfindungsgemäßen Substituenten von Het' überführt.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Verbindungen hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel IV

Het'SSO<sub>2</sub>Me

(IV)

in der Het' und Me die oben angeführten Bedeutungen haben mit Jod in wässrigem Medium umgesetzt und gegebenenfalls die oben genannten erfindungsgemäßen Substituenten von Het' in andere der oben genannten erfindungsgemäßen Substituenten von Het' überführt.

Die Umsetzung kann in einem Temperaturbereich zwischen etwa  $-40^\circ\text{C}$  und dem Siedepunkt des Lösungsmittels bzw. Lösungsmittelgemisches, bevorzugt zwischen etwa  $-10^\circ\text{C}$  und etwa  $+40^\circ\text{C}$  durchgeführt werden.

Es ist ganz allgemein möglich, in den Disulfiden der Formel I' im Heterocyclus Het' enthaltene Substituenten nach literaturbekannten Verfahren in andere erfindungsgemäße Substituenten zu überführen. So kann beispielsweise eine Alkoxycarbonyl- oder Aminocarbonylgruppe durch Verseifung, oder im Falle der Aminocarbonylgruppe auch durch Nitrosierung in eine freie Carboxylgruppe umgewandelt werden.

- Der Wirkstoff kann allein gegeben oder aber auch mit einem oder mehreren, vorzugsweise einem anderen Arzneimittel kombiniert werden, die Infektionen, die beispielsweise durch Bakterien, Pilze oder Viren hervorgerufen werden, und
- 5 Tumorkrankheiten günstig beeinflussen. Die Wirkstoffe können erfindungsgemäß sowohl parenteral als auch oral verabreicht werden. Für die parenterale Verabreichung kommen Lösungen oder Suspensionen des Wirkstoffes in einem pharmazeutisch verträglichen Vektor in Betracht, vorzugsweise
- 10 Pflanzenöl, wie z.B. Erdnußöl oder Sesamöl, sowie alkoholische Lösungen des Wirkstoffes, z.B. in Ethanol, Propandiol oder Glycerin oder in Gemischen der vorgenannten Lösungsmittel. Zur Herstellung wäßriger Lösungen wird der Wirkstoff vorzugsweise in Form wasserlöslicher, physiologisch
- 15 verträglicher Salze eingesetzt. Die Zubereitungen können die üblichen Hilfs- und Trägerstoffe enthalten. Als solche kommen beispielsweise Füllstoffe, Emulgatoren, Gleit- und Pufferstoffe und geschmackskorrigierende Agenzien in Frage.
- 20
- Im folgenden wird die Einwirkung der Verbindungen auf die Immunantwort der Maus und ihre immunstimulierenden Aktivitäten in verschiedenen in vivo-Standardmethoden beispielhaft erläutert. Die herangezogenen verschiedenen Test-
- 25 methoden sind bekanntermaßen für die Beurteilung von Immunstimulantien und deren Wirkqualität besonders gut geeignet.

Experiment 1

Wirkung auf die zelluläre immunologische Reaktion vom verzögerten Typ gegen Schafserythrozyten (delayed type hypersensitivity, DTH)

Es wurden Gruppen von 5 weiblichen NMRI-Mäusen mit einem Gewicht von 18 - 20 g intravenös entweder  $10^6$  oder  $10^9$  rote Blutkörperchen vom Schaf pro Tier verabreicht. Schafserythrozyten gelten in der Immunologie als Standardprüfungssubstanz (Antigen) zur Auslösung von zellulären und humoralen Immunreaktionen. Im besonderen gibt dieser Test Auskunft über die Funktionsfähigkeit der T-Zell-abhängigen Komponente (T-Helferzellen) des Immunsystems. Die gemäß Ausführungsbeispiel 8 erhaltene Prüfungssubstanz (Bis-(5-Carboxymethyl-4-methyl-thiazol-2-yl)-disulfid) wurde an den Tagen -3, -2, -1 und 0 in den Konzentrationen 20 mg/kg, 30 mg/kg und 40 mg/kg in physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal zweimal täglich appliziert. Nach 5 Tagen wurden allen Tieren jeweils  $2 \times 10^8$  Schafserythrozyten in die Fußsohle injiziert und 24 Stunden später wurde die Schwellung des Fußes gemessen. Die Fußschwellung wird durch eine Hautreaktion vom verzögerten Typ (delayed type hypersensitivity, DTH) ausgelöst und ist, wie dem Fachmann bekannt, ein Maß für die zelluläre Immunantwort (Collins, F.M. und Mackaness, G.B., J. Immunol. 101, 830-845, 1968). Die in der Tabelle 1 zusammengestellten Ergebnisse veranschaulichen, daß es durch die Verabfolgung der erfindungsgemäß erhaltenen Substanz beispielsweise nach Immunisierung mit  $10^6$  Schafserythrozyten, zur Steigerung der zellulären Immunantwort kommt. Ein Maximum der Stimulation kann in diesem Experimentalansatz bei der Gabe von 30 mg/kg Prüfungssubstanz beobachtet werden.

Tabelle 1

Immunisierung von Mäusen mit Schafserythrozyten-Wirkung auf die zelluläre Immunantwort (DTH-Reaktion)

5	2x/Tag i.p. Applikation	% Fußschwellung bei
	an Tag -3, -2, -1, 0 von	10 <sup>6</sup> Erythrozyten
	PBS*	24,3 ± 1,3
	20 mg/kg	28,3 ± 6,7
	Prüfsubstanz 30 mg/kg	36,5 ± 6,5
10	40 mg/kg	31,4 ± 8,7

\* PBS = Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (NaCl:8000 mg/l, KCl: 200 mg/l, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O: 1440 mg/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:200 mg/l)

Experiment 2

15 Einfluß auf die Stimulation der unspezifischen Immunität -  
Aktivierung von mononukleären Phagozyten

Hier wurde der Einfluß der nach Ausführungsbeispiel 8 erhaltenen Prüfsubstanz auf die Stimulation von Peritoneal-  
20 makrophagen bei 6- 8 Wochen alten NMRI-Mäusen untersucht. Mäuseweibchen erhielten auf parenteralem oder oralem Wege die Prüfsubstanz in einer Dosis von 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg und 200 mg/kg. Der Kontrollgruppe wurde gepufferte Kochsalzlösung verabreicht. Drei Tage nach den Injektionen  
25 wurden die Mäuse getötet, und es wurden die Peritoneal-makrophagen der Tiere auf ihren Aktivierungszustand hin untersucht. Als Maß der Makrophagenaktivierung wurde zum einen die Sekretion der lysosomalen Enzyme (β-Galactosidase, β-Glucuronidase, N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase) bestimmt. Auf  
30 der anderen Seite konnte in vergleichbaren Makrophagen-kulturen die Pinozytose durch die Aufnahme von kolloidalem Gold (<sup>198</sup>Au) - wie sie dem Fachmann bekannt ist - untersucht werden. Die Höhe des oxidativen Stoffwechsels bei Makrophagen gilt als ein weiteres Maß für ihren  
35 Aktivierungszustand. Gemessen wird diese Aktivität unter Zuhilfenahme des Biolumaten durch Bestimmung der Chemolumineszenz.

Zu diesem Zweck wurden entweder in Petrischalen von 30 mm Durchmesser  $3 \times 10^6$  Makrophagen mit 1 ml TC 199-Kulturmedium oder aber  $10^6$  Makrophagen mit 100  $\mu$ l in Rundbogen-Polyäthylen-Röhrchen (zur Bestimmung der Chemolumineszenz) bei 5 % CO<sub>2</sub> und 37°C kultiviert.

Nach einstündiger Bebrütung wurden die Kulturen gewaschen, um schwimmende Zellen zu entfernen. Die Chemolumineszenz (Röhrchenkultur) wurde dann direkt bestimmt, während die Petrischalen erneut 24 Stunden bei 37°C bebrütet wurden und danach die Enzym- und Pinozytoseaktivität in den Kulturen bestimmt wurde. Es wurden die nachstehenden Ergebnisse erzielt.

# 15 Tabelle 2

Wirkung auf den oxidativen Stoffwechsel bei Maus-Peritonealmakrophagen (Chemolumineszenz in RLE\*/15Minuten).

1 x Applikation von		intraperitoneal	oral
20	PBS	$2,97 \pm 0,28 \times 10^5$	$3,65 \pm 0,81 \times 10^5$
	Prüf- 25 mg/kg	$7,87 \pm 0,28 \times 10^5$	$6,41 \pm 0,42 \times 10^5$
	substanz 50 mg/kg	$9,72 \pm 0,82 \times 10^5$	$8,99 \pm 0,39 \times 10^5$
	100 mg/kg	$12,85 \pm 2,37 \times 10^5$	$11,85 \pm 0,92 \times 10^5$
25	200 mg/kg	$24,40 \pm 3,39 \times 10^5$	$15,60 \pm 1,98 \times 10^5$

\*RLE = Relative Lichteinheiten

Die parenterale sowie die orale Behandlung von NMRI-Mäusen mit der gemäß Beispiel 8 hergestellten Prüfsubstanz stimuliert die Makrophagenaktivität und hat damit eine immunitätstimulierende Wirkung. So wird der oxidative Stoffwechsel bei Makrophagen mit der Generierung von Sauerstoffradikalen und dem damit verbundenen meßbaren Licht deutlich erhöht. Bei Dosierungen von 25 mg/kg aufwärts kommt es zu einer dosisabhängigen Steigerung der Makrophagenaktivität sowohl bei parenteraler als auch oraler Applikation.

Aus der Tabelle 3 ist zu entnehmen, daß Makrophagen von Kontrollmäusen nur geringe Mengen an lysosomalen Enzymen ( $\beta$ -Glucuronidase,  $\beta$ -Galactosidase, N-Acetyl- $\beta$ -D-Glucosaminidase) in den Kulturüberstand abgeben. Mononukleäre Phagozyten von Mäusen, die parenteral oder oral mit der Prüfsubstanz 72 Stunden behandelt wurde, sezernieren die o.a. sauren Hydrolasen ( $\beta$ -Glu,  $\beta$ -Gal, N-Ac-Glu) deutlich mehr und weisen damit eine Dosiswirkungskurve auf, die bei allen gemessenen Enzymen eine Überlegenheit gegenüber den Kontrollen erkennen läßt. Es ist ersichtlich, daß die Prüfsubstanz eine stimulierende Wirkung auf die Makrophagenaktivität besitzt und zur Erhöhung der Enzymfreisetzung beiträgt.

15 Tabelle 3

Einfluß der Prüfsubstanz auf die Enzymfreisetzung lysosomaler Hydrolasen von Maus-Peritonealmakrophagen.

1 x i.p./p.o.	$\beta$ -Glu	$\beta$ -Gal	N-Ac-Glu
20 Applikation	mU/ml	mU/ml	mU/ml
PBS	755/ 484	1306/ 1702	1238/1168
25 mg/kg	1001/ 897	2584/ 4917	2786/1947
Prüf- 50 mg/kg	1370/1133	11058/ 9179	3315/2862
substanz 100 mg/kg	1791/1593	17596/13195	4305/3676
25 200 mg/kg	2136/1886	22351/17357	6548/5621

Die quantitative Bestimmung der Pinozytoseaktivität bei mononukleären Phagozyten wurde nach der Methode von Davies et al. durchgeführt (Davies, P. Allison, A.C. und Haswell, A.D.; Biochem. Biophys. Res. Com. 52, 627, 1973). Dazu wurde radioaktives, kolloidales Gold ( $^{198}\text{Au}$ ) mit einer Partikelgröße von 20 nm und einer spezifischen Aktivität von 4-12 mCi/mg Au benutzt. Die Ergebnisse in Tabelle 4 veranschaulichen den Effekt der nach Beispiel 8 erhaltenen Prüfsubstanz auf die Endozytoseleistung. Die Pinozytose von kolloidalem Gold ( $^{198}\text{Au}$ ) durch Maus-Peritonealmakrophagen von mit der erfindungsgemäßen Verbindung behandelten Tieren



ist im Vergleich mit den Makrophagen von unbehandelten Tieren signifikant und dosisabhängig erhöht.

Tabelle 4

- 5 Der Effekt der Prüfsubstanz auf die Pinozytoseleistung von Mausmakrophagen.

1 x Applikation von		intraperitoneal		oral	
10	PBS	0,286	$\times 10^3$ cpm	0,198	$\times 10^3$ cpm
	25 mg/kg	0,341	" "	0,272	" "
	Prüf- 50 mg/kg	0,396	" "	0,358	" "
	substanz 100 mg/kg	0,462	" "	0,416	" "
	200 mg/kg	0,587	" "	0,506	" "

15 Experiment 3

Erhöhung der Widerstandskraft von Balb/c-Mäusen gegen eine Candida albicans Infektion

20 a) Prophylaktische Behandlung:

Balb/c-Mäuse wurden über 4 Tage in einer Dosierung von 2 x 60 mg/kg/Tag intraperitoneal mit der Prüfsubstanz (Verbindung nach Ausführungsbeispiel 8) behandelt. 24 Stunden nach der letzten Gabe der Prüfsubstanz werden diese Tiere und die Kontrolltiere, denen physiologische Kochsalzlösung in gleichen Volumina und Zeitabständen verabreicht worden war, mit Candida albicans intravenös infiziert ( $5 \times 10^5$  CFU/Maus). Aus der Absterberate nach der Infektion lassen sich entsprechend die mittleren Überlebenszeiten berechnen. Die Tiere der Kontrollgruppe sterben zu 50 % nach 9,7 Tagen, die mit der Prüfsubstanz behandelte Gruppe zeigte eine mittlere Überlebenszeit von 16,1 Tagen. In dem gewählten Applikationsschema mit den entsprechenden Dosierungen (prophylaktische Verabreichung) induziert die Prüfsubstanz eine signifikante Erhöhung der Resistenz der Balb/c-Maus gegen Candida albicans.

Tabelle 5

Mittlere Überlebenszeiten nach *C. albicans* Infektion  
( $5 \times 10^5$  CFU)

5	Substanz 2 x 60 mg/kg/ Tag i.p.	mittlere Überlebens- zeit (Tage)	Vertrauensbereich	
			95 %	99 %
	PBS	9,7	8,4-10,6	7,8-10,9
	Prüfsubstanz	16,1	14,8-17,4	14,4-17,8

10

b) Therapeutische Behandlung:

Bei der therapeutischen Behandlung einer chronischen  
Candida albicans Infektion wurden weibliche Balb/c-Mäuse  
15 (15/Gruppe) am Tag 0 intravenös mit Candida albicans  
( $1 \times 10^5$  CFU/Maus) infiziert. Nach erfolgter Infektion wur-  
den die Tiere an 8 aufeinanderfolgenden Tagen (Tag 3 - 10)  
mit jeweils 60 mg/kg der Prüfsubstanz (Verbindung nach  
Ausführungsbeispiel 8) intraperitoneal behandelt. Den  
20 Kontrolltieren wurde physiologische Kochsalzlösung  
injiziert. An den Tagen 8, 14 und 21 wurden den Tieren Urin  
entnommen und die Keimzahl bestimmt. Am Tag 30 wurden die  
Tiere getötet und die Keimzahl und die Nekrosenbildung der  
Nieren bestimmt. Die Tabelle 6 zeigt, daß die Prüfsubstanz  
25 bei therapeutischer Gabe deutlich alle Parameter der chro-  
nischen Candida albicans Infektion (Keimzahl in Urin und  
Nieren und Nekrosenbildung) reduziert und damit die  
Erkrankung therapeutisch beeinflußt. Während bei den  
Kontrolltieren sich zu einem hohen Prozentsatz Keime im  
30 Urin nachweisen lassen, wird bei den behandelten Tieren die  
Keimzahl signifikant erniedrigt.

Auch die Keimbesiedlung der Nieren wird durch die Therapie  
von 63 % auf 27 % reduziert, bei einer gleichzeitigen  
35 Verringerung der Nekrosenbildung von 87 % auf 10 %.

Tabelle 6

Therapeutische Behandlung einer chronischen Candida albicans Infektion ( $1 \times 10^5$  CFU)

5	Substanz	Tiere mit positivem Befund		Nieren mit positivem Keimbefund		nekro-
	60 mg/kg					tische
	i.p.					Nieren
	Tag 3-10	Tag 8	Tag 14	Tag 21	Tag 30	Tag 30
	PBS	4/15	8/15	10/15	19/30	26/30
10		(27 %)	(53 %)	(67 %)	(63 %)	(87 %)
	Prüf-	1/15	1/15	4/15	8/30	3/30
	substanz	( 7 %)	( 7 %)	(27 %)	(27 %)	(10 %)

15

Experiment 4

Stimulation der DTH-Reaktion durch die erfindungsgemäßen Verbindungen

20

Wie in Experiment 1 beschrieben, wurden NMRI-Mäuse mit den erfindungsgemäßen Substanzen behandelt.

25 Als Test zur Erfassung der Immunstimulation wurde die DTH-Reaktion überprüft.

30 Tabelle 7 zeigt die relative Wirksamkeit der Prüfsubstanz, bezogen auf die Verbindung aus Beispiel 8, deren maximale Aktivierung 100 % entspricht (Differenz zwischen Kontrolle und Stimulation). Der Tabelle ist zu entnehmen, daß die DTH-Reaktion bei den mit den Prüfsubstanzen vorbehandelten Tieren deutlich stärker ausgeprägt ist, als bei den entsprechenden Kontrolltieren.

Tabelle 7

	Verbindung aus Beispiel Nr.	Dosis (mg/kg)	Applikation	DTH-Reaktion (SRBC)
5	2	20	1 x i.p. Tag 0	88 %
	5	200	"	61 %
	6	100	"	100 %
	8	100	"	100 %
	10	10	"	112 %
10	12	100	"	96 %
	13	200	"	147 %
	14	100	"	118 %

Experiment 5

15

Stimulation der Makrophagenaktivität durch die erfindungs-  
gemäßen Verbindungen

Wie im Experiment 2 beschrieben, wurden NMRI-Mäuse mit den  
20 erfindungsgemäßen Verbindungen behandelt.

Als Test zur Erfassung der Immunstimulation wurde die  
Funktion der Makrophagen (Chemolumineszenz und Enzym-  
aktivität) überprüft.

25

Tabelle 8 zeigt die relative Wirksamkeit der Prüfsubstanzen  
bezogen auf die Verbindung aus Beispiel 8, deren maximale  
Aktivierung (Differenz zwischen Kontrolle und Stimulation)  
100 % entspricht. Der Tabelle ist zu entnehmen, daß im  
30 Vergleich zu Makrophagen aus unbehandelten Tieren, diese  
Zellen auch durch alle Prüfsubstanzen in ihrer  
Chemolumineszenzreaktion stark stimuliert und in ihrem  
Gehalt an lysosomalen Enzymen deutlich erhöht waren.

Tabelle 8

	Verbindung aus Beispiel Nr. (100 mg/kg i.p.)	Makrophagenaktivität	
		Chemolumineszenz	Exozytose
5	1	30 %	48 %
	2	72 %	53 %
	5	37 %	45 %
	6	26 %	33 %
10	8	100 %	100 %
	10	66 %	21 %
	12	39 %	54 %
	13	81 %	77 %
	14	97 %	93 %

15

Experiment 6

Stimulation der Infektabwehr gegen Candida albicans In-  
fektionen durch prophylaktische Gabe der erfindungsge-  
20 mäßen Verbindungen

Wie in Experiment 3a beschrieben, wurden Balb/c-Mäuse mit den erfindungsgemäßen Verbindungen behandelt.

25 Wie Tabelle 9 zeigt, steigt die mittlere Überlebenszeit der Mäuse nach C. albicans Infektion, verglichen mit einer unbehandelten Kontrollgruppe, signifikant an.

Tabelle 9

Nr.	Beispiel	Dosis (mg/kg)	Relative Verlängerung der mittleren Überlebenszeiten *
5		1 x i.p.Tag	post inf.
	1	1	144
	2	1	123
	5	10	142
	6	10	145
10	8	1	130
	10	10	135
	12	10	205
	14	10	107

15 \*Mittlere Überlebenszeit der Kontrollgruppe = 100

Experiment 7

Einfluß auf die Stimulation der Tumorabwehr gegen das B16-

20 Melanom

Bei weiblichen C57Bl/6 Mäusen (10 Tiere/Gruppe) mit einem Gewicht von 18 - 20 g wurde mit  $2 \times 10^5$  lebenden B16-Melanomzellen ein Primärtumorzustand induziert. Nach Ausprägung einer bestimmten Tumorgroße (0.65 cm im Durchmesser) wurde der Primärtumor entfernt. Die unbehandelten Tiere starben dann an Metastasen in der Lunge. Nach der Tumorentfernung wurden die Tiere an den Tagen 3, 5, 7, 9, 11, und 13 nach Amputation des Primärtumors mit 50, 100 und 200 mg/kg der nach Beispiel 8 erhaltenen Prüfsubstanz intraperitoneal behandelt. Aus der Absterberate nach Amputation des Primärtumors durch die Entwicklung von Lungenmetastasen lassen sich entsprechend die mittleren Überlebenszeiten berechnen. Danach sterben die Tiere der Kontrollgruppe zu 50 % nach 26 Tagen. Die mit der Prüfsubstanz behandelten Gruppen zeigten (vgl. Tabelle 10) mit den entsprechenden Dosierungen eine signifikante

Erhöhung der mittleren Überlebenszeit auf 43, 40 und 35 Tage.

#### Tabelle 10

5

#### Therapeutische Tumor-Behandlung beim B16-Melanom

Applikation 6 x i.p. (mg/kg)		mittlere Überlebenszeit
Tag 3, 5, 7, 9, 11, 13		(Tage)
10	PBS	26
	50	43
	Prüfsubstanz 100	40
	200	35

#### 15 Experiment 8

#### Einfluß auf die Knochenmarkskoloniebildung

Hier wurde der Einfluß der nach Beispiel 8 erhaltenen  
 20 Prüfsubstanz auf die Stimulation von Knochenmarkskolonien  
 bei 6 - 8 Wochen alten B2D2F1 Mäusen untersucht.  
 Mäuseweibchen erhielten die Prüfsubstanz intraperitoneal in  
 den Dosen 2,5 und 5 mg/kg. Einen Tag später wurden die  
 Tiere getötet, die Knochenmarkszellen isoliert und nach den  
 25 allgemein bekannten Methoden (Metcalf, Immunology 21, 427,  
 1971 und Stanley et al. J. Exp. Med. 143, 631, 1979)  
 kultiviert. Zur Entwicklung der Knochenmarkskolonien wurde  
 als "CSF"-Quelle (Colony stimulating factor) wie üblich  
 L-Zell-Überstand (15 %) benutzt. Die Kolonien wurden 8 Tage  
 30 nach der Aussaat gezählt. Wie aus der Tabelle 11 zu er-  
 sehen ist, führt die einmalige Gabe von 2,5 oder 5 mg der  
 Prüfsubstanz zu einer deutlichen Steigerung der  
 Koloniebildung bei Knochenmarkszellen sowohl mit als auch  
 ohne Zugabe von CSF (Colony stimulating factor) in vitro.

Tabelle 11

In vivo-Effekt auf die Knochenmarkskoloniebildung

5	Prüfsubstanz 1 x i.p. (mg/kg)	Zahl der Knochenmarkskolonien (Tag 8)			
		mit CSF (15 %)		ohne CSF (15 %)	
	PBS	41	± 6	0	
	Prüf- 2,5	94	± 11	24	± 2
	substanz 5,0	163	± 8	44	± 5
10					

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung, ohne sie jedoch einzuschränken.



Beispiel 1Bis-(3-Hydroxy-1-phenyl-1,2,4-triazol-5-yl)-disulfid

- 2,9 g (15 mmol) 3-Hydroxy-1-phenyl-5-mercapto-1,2,4-triazol werden in  
100 ml Methanol vorgelegt und bei Raumtemperatur  
3,2 ml (33 mmol) Wasserstoffperoxid 35 %ig in Methanol  
5 zugetropft. Die Lösung färbt sich zunächst gelb und nach 20 Min. fällt die neue Verbindung langsam aus. Nach vier Stunden wird der Niederschlag abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet.

10

Ausbeute 2,1 g = 72 % d. Th.

Fp: 232 °C Zersetzung

- 15 NMR ( $d_6$ -DMSO)  $\delta$  = 11,58 ppm, s, 2H, OH  
7,38 ppm, m, 10H, aromat. H

Beispiel 2:

- 20 Bis-(5-Carboxy-benzimidazol-2-yl)-disulfid

Darstellung analog Beispiel 1 aus 2-Mercaptobenzimidazol-5-carbonsäure

- 25 Ausbeute 70 % d. Th.

Fp. 235 - 8 °C

- 30 NMR ( $d_6$ -DMSO)  $\delta$  = 9,4 ppm, d, NH  
7,4 - 8,4 ppm, m, aromat. H

Beispiel 3:Bis-(3-Carboxy-pyrid-2-yl)-disulfid

Darstellung analog Beispiel 1 aus 2-Mercaptopyridin-3-carbonsäure

Ausbeute: 56 % d. Th.

5

Fp: 206 °C

NMR ( $d_6$ -DMSO)  $\delta$  = 8,55 ppm, q, 2H  
8,22 ppm, q, 2H  
10 7,53 ppm, q, 2H

Beispiel 4:

15 Bis-(5-Aminocarbonylmethyl-4-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-disulfid

Herstellung analog Beispiel 1 aus (5-Aminocarbonylmethyl)-2-mercapto-4-methyl-1,3-thiazol

20 Ausbeute 92,1 %

Fp. 200 - 203 °C

25 NMR ( $d_6$ -DMSO)  $\delta$  = 7,33, br d, 4H NH<sub>2</sub>  
3,62 s, 4H, CH<sub>2</sub>  
2,26 s, 6H, CH<sub>3</sub>

Beispiel 5:

30 Bis-[4-(2-Chlorallyl)-6-hydroxy-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl]-disulfid

- 2,2 g 4-(2-Chlorallyl)-6-hydroxy-3-mercapto-5-oxo-  
4,5-dihydro-1,2,4-triazin wurden in  
25 ml Methanol gelöst, bei Raumtemperatur tropfen-  
weise mit  
5 0,86 ml 35 %  $H_2O_2$  versetzt und 1 Stunde nachgerührt  
wobei das Produkt auskristallisierte. Es wurde  
abgesaugt, mit Methanol gewaschen und an der  
Luft getrocknet.

10 Ausbeute 1,2 g

Fp: 204 - 5 °C (Z)

- 15 NMR ( $d_6$ -DMSO)  $\delta$  = 12,7 ppm (br. s., OH)  
5,5 ppm (dd, =  $CH_2$ )  
4,8 ppm (s,  $CH_2N$ )

Beispiel 6:

- 20 Bis-(6-Hydroxy-2-methyl-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-  
3-yl)-disulfid

- 1,59 g 6-Hydroxy-3-mercapto-2-methyl-5-oxo-2,5-  
dihydro-1,2,4-triazin wurden in  
25 30 ml Methanol gelöst, bei Raumtemperatur tropfen-  
weise mit  
0,43 ml 35 %  $H_2O_2$  versetzt und 30 Minuten nachgerührt.  
Die Lösung wurde mit Kohle geklärt, einrotiert  
30 und der Rückstand mit Eiswasser verrieben.  
Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Eis-  
wasser gewaschen, an der Luft getrocknet,  
in Methanol suspendiert, abfiltriert, mit  
wenig Methanol gewaschen und im Vakuum getrock-  
35 net.

Ausbeute 0,8 g,

Fp: 220 °C (Z)

NMR ( $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 3,87 ppm (s, CH<sub>3</sub>)

5 Beispiel 7:

Bis-(6-Hydroxy-4-methyl-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl)-disulfid

- 10 3,7 g 6-Hydroxy-3-mercapto-4-methyl-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-triazin wurden in  
400 ml Methanol und  
38 ml H<sub>2</sub>O gelöst. Bei Raumtemperatur wurden  
2,5 ml 35 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zugeotropft. Nach 30 Minuten Rühren  
15 wurde auf 100 ml eingeeengt, der Niederschlag abgesaugt und getrocknet.

Ausbeute 1,5 g,

- 20 Fp: 237 °C  
NMR (CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D):  $\delta$  = 3,67 ppm s, 2H, OH  
3,8 ppm, s, 6H, CH<sub>3</sub>

Beispiel 8:

25

Bis-(5-Carboxymethyl-4-methyl-thiazol-2-yl)-disulfid

- 23,62 g 5-Carboxymethyl-4-methyl-2-mercapto-thiazol wurden in  
30 250 ml Methanol gelöst, filtriert und unter Wasserbadkühlung langsam mit  
12,5 ml 35 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> versetzt. Es wurden 30 Minuten im Wasserbad und 2 Stunden bei Raumtemperatur nachgerührt. Nach Filtration und Waschen  
35 mit Methanol wurden 22,8 g der Titelverbindung isoliert.

Fp: 162 °C

NMR (CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D):  $\delta$  = 2,6 ppm, s, 6H, CH<sub>3</sub>  
 4,2 ppm, s, 4H, CH<sub>2</sub>

5

Beispiel 9:

Bis-(5-Carboxymethyl-1,3-thiazol-2-yl)-disulfid

- 10 0,88 g 2-Mercapto-1,3-thiazol-5-yl-essigsäure werden  
 in ca. 10 ml Methanol gelöst und unter Rühren  
 bei Raumtemperatur mit  
 0,5 ml 33 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung versetzt. Nach 0,5 h wurde  
 die Kristallsuspension gekühlt, filtriert  
 15 und der Filtrerrückstand getrocknet. Ausbeute  
 0,6 g vom Zersetzungspunkt 150 °C. Dünnschicht-  
 chromatographischer Vergleich auf Merck-Sili-  
 cagel-Platten zeigt vollständige Umsetzung  
 (RF: 0,3; Laufmittel: Essigester: 65, Ethanol:  
 20 25, Wasser: 10, Ameisensäure: 1)

Beispiel 10:

Bis-(4-Carboxymethyl-1,3-thiazol-2-yl)-disulfid

25

Setzt man

1,75 g 4-Carboxymethyl-2-mercapto-thiazol analog  
 Beispiel 8 um, so erhält man 0,95 g der  
 Titelverbindung.

30

Fp: 163 - 5 °C

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  = 3,7 ppm, s, 4H, CH<sub>2</sub>  
 7,6 ppm, s, 2H, CH  
 35 9,4 ppm, s, 2H, CO<sub>2</sub>H

Beispiel 11Bis-(2-Carboxymethylthio-1,3,4-thiadiazol-5-yl)-disulfid

- 1,4 g 2-Mercapto-1,3,4-thiadiazol-5-yl)mercaptoessig-  
säure werden in 10 ml Methanol aufgelöst und  
5 unter Eiskühlung mit  
0,65 ml 35 %  $H_2O_2$  tropfenweise versetzt. Es wird 1  
Stunde bei Raumtemperatur nachgerührt und  
filtriert. Die Kristalle werden mit wenig  
Methanol nachgewaschen und im Vakuum getrocknet.

10

Ausbeute: 1,3 g,

Fp: 179 °C (Z)

- 15 NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 13 ppm, breit,  $CO_2$   
4,2 ppm, s,  $CH_2$

Beispiel 12:

- 20 Bis-(5-Carboxy-1,3-thiazol-2-yl)-disulfid

- 21 g 2-Mercapto-thiazol-5-carbonsäure werden in  
100 ml Methanol unter leichtem Erwärmen gelöst. Unter  
Eiskühlung wird langsam mit  
25 10,7 ml 35 %  $H_2O_2$  versetzt und 45 Minuten bei Raum-  
temperatur nachgerührt. Es wird abgesaugt,  
mit Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute 21,5 g

30

Fp: 280 °C (Z),

NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 8,48 ppm, s, Thiazol-H

Beispiel 13:Bis-(5-Carboxy-4-methyl-thiazol-2-yl)-disulfid

- 1,75 g (10 mmol) 4-Methyl-2-mercapto-thiazol-5-carbonsäure werden in  
 50 ml Methanol aufgeschlämmt und unter Eiskühlung mit  
 5 0,86 ml 35 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  versetzt. Die Lösung wird 1/2 Stunde bei 0 °C und 1 Stunde bei Raumtemperatur nachgerührt. Die gebildeten Kristalle werden abgesaugt mit wenig Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet.
- 10 Ausbeute 1,52 g, Fp: 240 - 1 °C (Z)  
 NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  = 2,6 ppm, s,  $\text{CH}_3$

Beispiel 14:

- 15 Bis-(4-Carboxymethyl-5-methyl-thiazol-2-yl)-disulfid

Stufe 14-Brompropionylelessigsäuremethylester

- 20 22 g Propionylelessigsäuremethylester werden in  
 60 g  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und tropfenweise mit  
 8,7 ml  $\text{Br}_2$  in  
 30 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  versetzt. Es wird 1 1/4 h bei Raumtemperatur nachgerührt, nochmals mit  
 25 0,66 ml  $\text{Br}_2$  in  
 5 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  versetzt und weitere 1 1/4 h gerührt.  
 Es wird 3 x mit je  
 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , 1 x mit  
 30 20 ml ges.  $\text{NaHCO}_3$  und 2 x mit je  
 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingengt. Man erhält 38,6 g Öl.

Stufe 2(2-Mercapto-5-methyl-thiazol-4-yl)-essigsäuremethylester

- 30,1 g des Öls aus Stufe 1, gelöst in  
 80 ml Äthanol, werden zu einer Lösung von  
 24 g frisch bereitetem Ammoniumdithiocarbaminat  
 in  
 5 200 ml Äthanol/  
 200 ml H<sub>2</sub>O bei Raumtemperatur zugetropft. Es wird  
 2 1/2 h nachgerührt und mit  
 7,5 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach 1 Stunde  
 Nachrühren wird zur Trockne eingedampft und mit  
 10 200 ml CHCl<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O (1:1) versetzt. Es wird noch zweimal  
 mit H<sub>2</sub>O gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und  
 eingeeengt. Der fest Rückstand wird in Äther  
 aufgeschlämmt und abfiltriert.

15 Ausbeute 8,9 g,

Fp: 149 °C (Z)

NMR (d<sub>6</sub>-DMSO) : δ = 11 ppm, breit, SH  
 20 3,7 ppm, s, OCH<sub>3</sub>  
 3,5 ppm, s, CH<sub>2</sub>  
 2,1 ppm, s, CH<sub>3</sub>

Stufe 3

25

(2-Mercapto-5-methyl-thiazol-4-yl)-essigsäure

- 1,98 g Stufe 2 wurden unter Erwärmen in  
 20 ml Methanol gelöst. Es wurde 40 Min. bei Raumtem-  
 30 peratur nachgerührt, mit  
 50 ml H<sub>2</sub>O versetzt, und mit HCl konz. auf pH 1,0  
 angesäuert. Nach 1 h Rühren unter Eiskühlung  
 wurde abgesaugt und mit Eiswasser chloridfrei



gewaschen. Trocknen im Vakuum über  $P_2O_5$  ergaben 1,67 g.

5 NMR ( $d_6$ -DMSO):  $\delta = 13,9$  ppm, breit,  $CO_2H$   
 3,5 ppm, s,  $CH_2$   
 2,08 ppm, s,  $CH_3$

#### Stufe 4

#### 10 Bis-(4-Carboxymethyl-5-methyl-thiazol-2-yl)-disulfid

430 mg Stufe 3 wurden in  
 20 ml Methanol suspendiert und unter Erwärmen gelöst. Bei Raumtemperatur wurden  
 15 0,25 ml 35 %  $H_2O_2$  zugetropft und noch 1 h nachgerührt.  
 Nach Einengen auf ca. 5 ml wurde filtriert, und mit wenig eisgekühltem Methanol gewaschen.

Ausbeute: 280 mg

20

NMR ( $d_6$ -DMSO):  $\delta = 3,65$  ppm, s,  $CH_2$   
 2,37 ppm, s,  $CH_3$

#### Beispiel 15:

25

#### Bis-(5-Carboxymethyl-1,3-thiazol-2-yl)-disulfid

0,8 g 2-Mercapto-5-carboxymethyl-1,3-thiazol wurden  
 in 10 ml Methanol gelöst und unter Rühren  
 30 tropfenweise mit 0,5 ml 33 %iger  $H_2O_2$ -Lösung  
 versetzt. Man ließ über Nacht rühren, und  
 filtrierte das auskristallisierte Produkt  
 ab.

Ausbeute 0,6 g vom Fp. 150 °C (Zers.), dünnschicht-  
chromatographisch einheitlich ( $R_f = 0,3$ ;  
Kieselgel; Laufmittel: Essigester, Ethanol,  
Wasser, Ameisensäure (60:25:15:1))

5

IR (KBr-Preßling):  $\nu = 1710 \text{ cm}^{-1}$  (COOH).

$^1\text{H-NMR}$  ( $d_6$ -DMSO):  $\delta$  (ppm): 3,8 (s,  $\text{CH}_2$ -Thiazol, 2H),  
7,6 (s, Thiazol-4H, 1H).

10

Beispiel 16:

Bis-(5-Methoxycarbonylmethyl-1,3-thiazol2-yl)-disulfid

- 15 0,5 g 2-Mercapto-5-methoxycarbonylmethyl-1,3-thiazol  
wurden in 5 ml Methanol gelöst und unter Rühren  
tropfenweise mit 0,3 ml 33 %iger  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung  
versetzt. Man ließ über Nacht rühren und fil-  
trierte das auskristallisierte Produkt ab.  
20 0,3 g vom Fp. 72 °C, dünnschichtchromatogra-  
phisch einheitlich auf Kieselgel mit Essigester  
als Laufmittel ( $R_f = 0,8$ ).

IR(KBr-Preßling):  $\nu = 1735 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{COOCH}_3$ ).

25

$^1\text{H-NMR}$  ( $d_6$ -DMSO):  $\delta$  (ppm): 3,6 (s,  $\text{CH}_2$ -Thiazol, 2H),  
3,7 (s,  $\text{COOCH}_3$ , 3H),  
7,0 (s, Thiazol-4H, 1H).

Beispiel 17:Bis-(4-Carboxy-1,3-thiazol-5-yl)-disulfid

5 g Bis-(4-methoxycarbonyl-1,3-thiazol-5-yl)-disulfid  
wurden in 100 ml Methanol suspendiert. Dazu gab  
man eine Lösung von 1,5 g NaOH in 20 ml H<sub>2</sub>O und  
erhitzte 1 h unter Rückfluß. Nach dem Abkühlen  
5 der Lösung wurde Methanol am Rotationsverdampfer  
abgezogen, die Wasserphase einmal mit wenig Essig-  
ester extrahiert und mit 2N HCl-Lösung sauer ge-  
stellt. Das Produkt wurde abfiltriert, getrocknet  
und aus Essigester umkristallisiert. Man erhielt  
10 2 g vom Fp. 154 °C.

IR (KBr-Preßling):  $\nu = 1680 \text{ cm}^{-1}$  (COOH)

<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub>-DMSO):  $\delta$  (ppm), 8,6 (s, Thiazol-2H).

Die Beispiele 18 bis 22 wurden wie in Beispiel 1 beschrieben synthetisiert.

Beispiel 18:

Bis-(5-Acetylamino-1,3-thiazol-2-yl)-disulfid

<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub> - DMSO):

δ = 2,16 ppm (s, 6H, -CH<sub>3</sub>), 7,56 ppm (s, 2H, Thiazol-H), 11,6 ppm (br s, 2H, -NH-)

Beispiel 19:

Bis-(5-Acetylamino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-disulfid

<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub> - DMSO):

δ = 2,20 ppm (s, 6H, -CH<sub>3</sub>), 12,84 ppm (br s, 2H, -NH-)

Beispiel 20:

Bis-(5-Glutarsäuremonoamido-1,3-thiazol-2-yl)-disulfid

<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub> - DMSO):

δ = 1,6 - 2,6 ppm (m, 12H, sechs CH<sub>2</sub>-Gruppen), 7,50 ppm (s, 2H, Thiazol-H), 12,63 ppm (br s, 2H, -NH-), 13,05 ppm (br s, 2H, -CO<sub>2</sub>H)

Beispiel 21:

Bis-(5-Ernsteinsäuremonoamido-1,3-thiazol-2-yl)-disulfid

<sup>1</sup>H-NMR (d<sub>6</sub> - DMSO):

δ = 2,4 - 2,7 ppm (m, 8H, -CH<sub>2</sub>), 7,50 ppm (s, 2H, Thiazol-H), 12,66 ppm (br s, 2H, -NH-), 13,15 ppm (br s, 2H, -CO<sub>2</sub>H)

Beispiel 22:

Bis-

[5-(2-Carboxymethyl-1-yl)-4-methyl-1,3-thiazol-2-yl]-disulfid

<sup>1</sup>H-NMR ( $d_6$  - DMSO):

$\delta$  = 2,27 ppm (s, 6H, -CH<sub>3</sub>), 2,55 ppm (d, 4H, Thiazol-CH<sub>2</sub>),  
2,96 ppm (t, 4H, CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>-)

Beispiel 23:

Bis-[(5-Carboxymethyl-6-hydroxy-4-methyl)-pyrimidin-2-yl]-  
disulfid

4 g 5-Carboxymethyl-6-hydroxy-2-mercapto-4-methylpyrimidin wurden in 200 ml 1 molarer Natriumhydrogencarbonatlösung gelöst und unter Eiskühlung mit 10 ml 35 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tropfenweise versetzt. Es wurde 4 h bei Raumtemperatur gerührt und unter Eiskühlung mit 1 N HCl auf pH 2,0 ausgesäuert. Der Niederschlag wurde abgesaugt und ergab nach Trocknen 1,5 g der Titelverbindung.

Mp. 331°C (Zers.), IR 1630, 1700 cm<sup>-1</sup>.

$\delta$  = 2,5 ppm (s, 6H, -CH<sub>3</sub>), 3,26 ppm, (s, 4H, -CH<sub>2</sub>)

Patentansprüche:

1. Verwendung von Disulfiden der allgemeinen Formel I

5

Het-S-S-Het

(I)

in der Het für einen gegebenenfalls substituierten 5-  
oder 6-gliedrigen Heterocyclus steht, bei der Her-  
stellung eines Arzneimittels zur Immunstimulation,  
10 Immunrestauration und zytostatischen Behandlung.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß  
Verbindungen der Formel I verwendet werden, in der Het  
ein gegebenenfalls substituiertes 5-gliedriger  
15 Heterocyclus mit einem Schwefel- oder Sauerstoffatom und  
1 bis 2 Stickstoffatomen oder mit 1 bis 4  
Stickstoffatomen ist, wobei diese Heterocyclen auch  
benzokondensiert sein können, oder ein gegebenenfalls  
substituiertes 6-gliedriger Heterocyclus mit 1 - 3  
20 Stickstoffatomen, wobei diese Heterocyclen auch ganz  
oder teilweise hydriert sein können.

3. Pharmazeutisches Mittel zur Immunstimulation, Immun-  
restauration und zytostatischen Behandlung enthaltend  
25 eine Verbindung der Formel I.

4. Pharmazeutische Mittel gemäß Anspruch 3, dadurch gekenn-  
zeichnet, daß sie zusätzlich noch eine oder mehrere  
gegen Infektionen oder Tumorerkrankungen wirksame  
30 Substanzen enthalten.

5. Verwendung einer Verbindung der Formel I oder eines  
Mittels gemäß Ansprüchen 3 und 4 zur Immunstimulation,  
Immunrestauration und zytostatischen Behandlung.

35

6. Disulfide der allgemeinen Formel I'



5 in der Het' für einen gegebenenfalls substituierten 5-  
gliedrigen Heterocyclus mit einem Schwefelatom und 1 bis  
2 Stickstoffatomen oder mit 1 bis 3 Stickstoffatomen  
steht, wobei diese Heterocyclen auch benzokondensiert  
sein können oder für einen gegebenenfalls substituier-  
10 ten 6-gliedrigen Heterocyclus mit 1 bis 3 Stickstoff-  
atomen, wobei diese Heterocyclen auch ganz oder teilwei-  
se hydriert sein können.

7. Verfahren zur Herstellung der Disulfide der allgemeinen  
15 Formel I', dadurch gekennzeichnet, daß man

a) eine Verbindung der Formel II



in der Het' die vorstehende Bedeutung hat, durch  
Umsetzung mit einem Oxidationsmittel in eine  
20 Verbindung der Formel I' überführt oder

b) eine Verbindung der Formel III



in der Het' die vorstehende Bedeutung hat und X für  
eine reaktive, leicht abspaltbare Gruppe steht, mit  
25  $\text{Me}_2\text{S}_2$  umgesetzt, wobei Me für ein Alkalimetall steht,  
oder

c) eine Verbindung der Formel IV



in der Het' und Me die vorstehenden Bedeutungen ha-  
30 ben, mit Jod in wäßrigem Medium umgesetzt  
und in den nach a), b) oder c) erhaltenen Verbindungen  
der Formel I' gegebenenfalls einen Substituenten des  
Heterocyclus Het' in an sich bekannter Weise in einen  
anderen Substituenten von Het' überführt.



Europäisches  
Patentamt

**EUROPÄISCHER TEILRECHERCHENBERICHT,**  
der nach Regel 45 des Europäischen Patent-  
übereinkommens für das weitere Verfahren als  
europäischer Recherchenbericht gilt

**0194571**  
Nummer der Anmeldung

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			EP 86102901.5
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.4)
X	US - A - 4 378 364 (D.R. GRASSETTI) * Zusammenfassung; Spalte 1, Zeile 22 - Spalte 3, Zeile 59; Beispiel 14 *	1-4, 6, 7	A 61 K 31/33 A 61 K 31/415 A 61 K 31/44 A 61 K 31/505 A 61 K 31/53 C 07 D 211/72 C 07 D 213/71 C 07 D 235/28
X	GB - A - 1 327 466 (MERCK & CO) * Ansprüche 1-10; Seite 1, Zeilen 27-46 *	1-3, 6	C 07 D 249/08 C 07 D 253/84 C 07 D 277/32
A	* Ansprüche 1-10; Seite 1, Zeilen 27-46 *	4, 7	C 07 D 285/12 A 61 K 31/41 A 61 K 31/425 A 61 K 31/455
X	US - A - 4 152 439 (D.R. GRASSETTI) * Spalte 1, Zeile 4 - Spalte 2, Zeile 29; Beispiele 9, 10 *	1-3, 4, 6	C 07 D 211/54 C 07 D 211/84 C 07 D 213/80 C 07 D 239/56 C 07 D 253/06
X	FR - A - 2 403 798 (W.H. RORER, INC.) * Anspruch 1 *	1-3, 6	
A	* Ansprüche 1, 8, 9 *	4	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.4)
			A 61 K 31/00
<b>UNVOLLSTÄNDIGE RECHERCHE</b>			
<p>Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung den Vorschriften des Europäischen Patentübereinkommens so wenig, daß es nicht möglich ist, auf der Grundlage einiger Patentansprüche sinnvolle Ermittlungen über den Stand der Technik durchzuführen.</p> <p>Vollständig recherchierte Patentansprüche: 1-4 Unvollständig recherchierte Patentansprüche: 6, 7 Nicht recherchierte Patentansprüche: 5</p> <p>Grund für die Beschränkung der Recherche:</p> <p>Verfahren zur therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers (siehe Art. 52(4) des Europäischen Patentübereinkommens)</p>			
Recherchenort WIEN		Abschlußdatum der Recherche 21-05-1986	Prüfer MAZZUCCO
<b>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN</b> X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze			
E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			





Europäisches  
Patentamt

# EUROPÄISCHER TEILRECHERCHENBERICHT

0194571  
Nummer der Anmeldung

EP 86102901.5

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 4)
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	betrifft Anspruch	
	<u>FR - A - 5 680M</u> (MERCK AKTIEN-GESELLSCHAFT)		C 07 D 275/02 C 07 D 285/04
X	* Anspruch 1 *	1-3,6	
A	* Anspruch 1, Seite 2 *	4	
	--		
A	<u>DE - A1 - 3 118 128</u> (BAYER AG)		
	--		
A	<u>EP - A1 - 0 077 630</u> (BEECHAM GROUP LTD.)		
	----		
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl. 4)